



Etude de cas H-Box à l'IGR de Villejuif



Le projet de l'IGR : la plateforme d'automates :

En 2012, le gouvernement français a mis en place un programme de recherche : PaCri (pour Projet Alliance Parisienne des Instituts de Recherche en Cancérologie), dans le cadre des investissements d'avenir : « Pôles hospitalo-universitaires en cancérologie ».

PaCri, financé sur 5 ans, a pour mission de mener des recherches en cancérologie et en particulier sur l'interface entre cancérologie et immunologie. PaCri s'adresse essentiellement aux cancers tumoraux. Les recherches mises en œuvre par la plateforme portent donc aujourd'hui sur cet axe : permettre de tuer les cellules détectées cancéreuses et activer l'immunité en identifiant les cellules cancéreuses, même quand elles sont dans l'état « dormant ».

L'utilisation de la plateforme est scindée en deux, à part égale : 50% du temps est consacré à la recherche médicale fondamentale, 50% aux applications pharmaceutiques, pour lesquelles la plateforme est louée. Si une piste est trouvée, la molécule sera brevetée dès autorisation par l'IGR. La licence d'exploitation du brevet pourra être ensuite cédée à l'industrie pharmaceutique pour produire le médicament ainsi révélé. Ce dispositif de collaboration étroite doit permettre l'autofinancement du programme.

La plateforme technique :



La plateforme, constituée d'automates, est équipée d'un syst sophistiqué de gestion de composés.

Oliver Kepp, de l'INSERM U848, pilote ce programme à l'IGR, le leadership du Professeur Kroemer. Avec lui, deux ingénieu un post-doc, assistés d'un étudiant PHD, utilisent la plateform quotidien. La plateforme fonctionne actuellement à plein régir

Le processus de recherche est très itératif.

A chaque fois que la piste suivie ne donne pas les résu escomptés, il faut adapter le processus et les manipulation reprogrammant les automates sur la plateforme.

Les tests se font toujours par trois, pour avoir la possibilité d'obtenir des résultats statistiques du style 2 « Yes » et 1 « No ».



Le schéma de fonctionnement de la plateforme peut être simplifié ainsi :

- Les cellules cancéreuses provenant d'une tumorothèque sont distribuées sur microplaques par le robot Biomek ou par un distributeur automatique,
- La microplaque est ensuite placée en pousse dans un incubateur à CO₂ pendant 24 heures,
- Le composé est ensuite distribué sur les cellules cancéreuses avec le robot distributeur Biomek,
- La microplaque est à nouveau replacée en incubateur pour une durée dépendant du type de traitement expérimenté,
- Le liquide est ensuite analysé au microscope et/ou dans un cytomètre de flux.

Les scientifiques de PaCri étudient l'action du médicament sur la cellule cancéreuse en identifiant puis en segmentant les résultats des recherches, procédant toujours par dichotomie, du macro au micro, pour comprendre comment la cellule et le composé interagissent.

La plateforme d'automates est équipée de logiciels dédiés :

- Un logiciel d'acquisition d'images,
- Un logiciel de pré-analyse,
- Un logiciel de statistiques,
- Un logiciel d'analyse de 384 puits,
- Un logiciel d'imagerie,
- Un logiciel pour identifier les phénotypes.

La proximité avec l'hôpital pourrait permettre à la plateforme d'utiliser à l'avenir des biopsies de l'Institut Gustave Roussy pour ses échantillons. Pour l'instant, les cellules utilisées proviennent intégralement de tumorothèques. Des populations de cellules représentatives des cancers tumoraux les plus fréquemment décelés sont ainsi utilisées quotidiennement sur le site.

Dans le cadre de PaCri, la puissance de feu est telle sur cette plateforme dernier-cri que 20 000 composés sont gérés hebdomadairement !

Les résultats sont au rendez-vous, ce qui permet de gagner du temps pour les études. Tester 20 000 composés prendrait en effet des mois dans une configuration classique...

Pourquoi une H-Box de Noroit pour PaCri ?

Dans un premier temps, M. Kepp a étudié le marché des robots pipetteurs et manipulateurs pour mettre en place les outils adéquats pour la plateforme automatisée. Les microscopes et l'automatisation des robots étaient la base du projet. L'IGR avait déjà une expérience réussie sur une petite plateforme équipée de robots Caliper et d'équipements de BD Medical.

Des échanges avec quelques confrères (comme à Grenoble), des rencontres avec des collègues d'autres plateformes en France (Lille, Strasbourg), en Europe (institut Max Planck à Berlin, à Bâle, en Suisse) mais aussi au Canada, ainsi que des recherches Internet ont aussi permis de recenser l'existant et d'identifier les acteurs clés du marché de l'automatisation.

Les négociations ont alors été menées avec Beckman, Molecular Devices et Thermo Fisher, début 2013.



Etude de cas

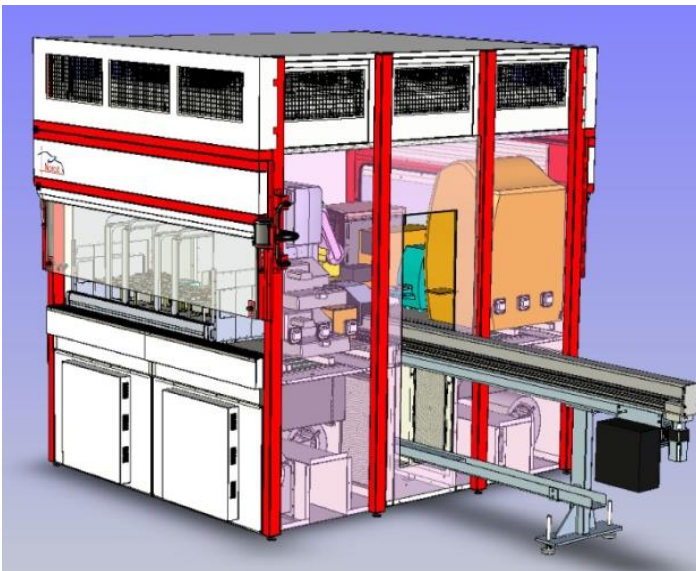
H-Box – 2014

La configuration de la plateforme est ainsi constituée :

- 1 lecteur de codes-barres 2D, de Thermo Scientific, pour identifier les tubes d'échantillons,
- 1 capsuleuse/désoperculateur FluidX,
- 1 gestionnaire de liquide Beckman Biomek,
- 1 manipulateur de liquide à grande échelle Biomek FX avec un canal 96 et une matrice 384,
- 1 distributeur automatique,
- 1 laveur de plaque Thermo Scientific,
- 2 incubateurs à CO₂ avec une contenance de 30 000 échantillons,
- 1 bras robotique Motoman Industrial.

Et bien sûr, l'enceinte de protection H-BOX de Noroit.

D'autres matériels, comme des congélateurs pour le stockage des échantillons ou d'autres outils de contrôle sont placés hors de la plateforme, mais sont aussi utilisés pour ces recherches.



Noroit, qui avait déjà collaboré avec Beckman pour des plus petites configurations à contraintes similaires, a été naturellement sollicité par M. Kepp.

C'est un Poste de Sécurité Microbiologique (PSM) H-Box 24-20 spécial, avec double entrée en vis-à-vis qui a été sélectionné pour la plateforme de l'IGR.

L'appareil possède un double système de ventilation pour assurer des veines de garde fortes et sécurisées.

La H-BOX 24-20 est équipée d'une filtration maximale de type H14 (efficacité de 99,999% sur les particules de 0.3µm) et d'un plan de travail équipé avec des traverses de renfort pour accueillir le robot et assurer le bon fonctionnement des manipulations.

Outre la difficulté technique d'héberger un ensemble robotisé lourd et volumineux, les ingénieurs R&D de Noroit ont dû adapter cet appareil à une configuration robotisée très spécifique proposée par Beckman. Il était en effet nécessaire d'aménager l'appareil pour permettre le transport de microplaques à l'aide d'un bras robotisé se déplaçant sur rails. Ce challenge technique a été relevé en scindant le caisson bas de ventilation en deux ensembles étanches distincts, et en augmentant sensiblement la capacité d'extraction d'air de l'appareil.

Les modèles H-BOX sont en effet équipés d'un dispositif de ventilation unique et innovant permettant de créer un rideau d'air très puissant bloquant toute sortie de particules contaminées du volume de travail. Ce dispositif, appelé « veine de garde », est mis en place sur les deux entrées de l'appareil mais aussi sur le pourtour de la chambre de manipulation.

Dans le cas de la H-BOX 24-20 installée à l'IGR, cette veine de garde est puissamment renforcée, de manière à pallier les perturbations de flux d'air créées lors du déplacement sur rail du bras manipulateur, mais aussi lors du fonctionnement des distributeurs de liquides. Les mouvements dans l'enceinte ne viennent pas perturber cette veine de garde, garantissant ainsi à l'utilisateur une protection biologique absolue.



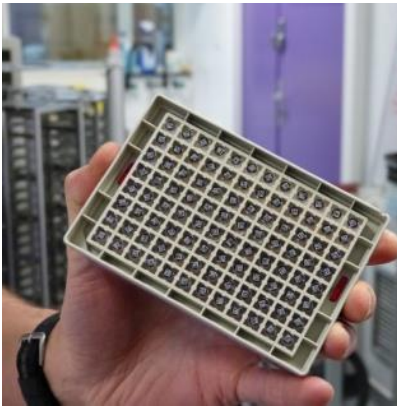
Les premiers résultats :

M. Kepp est très confiant.

Inaugurée en décembre 2013, les tests de qualification de la plateforme se sont déroulés parfaitement. Les robots fonctionnent à plein régime, dans un environnement sécurisé qui ne laisse rien au hasard. La qualification complète du e Le PSM H-BOX a démontré la protection absolue des manipulateurs et des manipulations.

Les recherches sur les cellules cancéreuses se poursuivent donc dans les meilleures conditions pour PaCri.

Grâce à cette plateforme d'automates, dans un environnement de classe 2, des recherches pointues en cancérologie et en immunologie sont ainsi mises en œuvre. Un gain de temps évident se constate chaque semaine, après les premiers résultats obtenus par PaCri, ce qui laisse présager des brevets prochainement et un auto-financement du programme qui pourrait perdurer au-delà des 5 années de financement actuel.



Comme le précise M. Kepp : « la plateforme est aussi productive qu'elle peut l'être ». La H-Box « est un matériel vraiment adapté aux process d'une plateforme de pointe comme celle-ci ».

Parmi les PSM XXL adaptés à l'hébergement de gros équipements de laboratoire de la gamme H-Box de Noroit, le modèle utilisé à l'IGR est la H-BOX 24-20, de très grandes dimensions (2m40 x 2m, à double entrée, en vis-à-vis).

Dans 5 ans, il faudra sans doute repenser la plate-forme dans sa configuration matérielle. Outre les évolutions technologiques, les innovations que l'INSERM U848 compte bien intégrer à PaCri, il faudra faire évoluer par la même occasion l'enceinte de classe 2 pour accompagner la sécurité de l'outil de recherche.

Nul doute que Noroit sera le bon interlocuteur pour accompagner l'IGR dans la poursuite de ses recherches scientifiques sur le cancer !

A propos de l'Institut Gustave Roussy :



Premier centre de lutte contre le cancer en Europe, Gustave Roussy réunit sur le même site 2600 professionnels dont les missions sont de soigner les personnes atteintes de cancer, de mettre au point des thérapies nouvelles et de diffuser les connaissances dans les communautés médicales et scientifiques, françaises et internationales.

Gustave Roussy prend en charge les adultes et les enfants atteints de cancers, à tous les stades de la maladie, au sein d'un établissement où soins, recherche et enseignement sont étroitement liés. Son expertise et ses pratiques médicales de pointe en font un centre de référence en France, mais aussi à l'échelle internationale.

L'institut fonde sa spécificité sur l'innovation thérapeutique, le développement de la médecine personnalisée, la qualité et la sécurité des soins, en plaçant toujours le patient au centre de ses missions. Une tradition d'écoute et de respect du patient qui répond à une conviction : au-delà de l'expertise médicale et scientifique, la prise en charge passe aussi par le dialogue, une relation de confiance et un accompagnement de la personne dans sa globalité.

Etablissement de santé privé d'intérêt collectif (ESPIC), à but non lucratif, Gustave Roussy est habilité à recevoir des dons et legs.

A propos de PaCri :



PaCri est porté par le PRES Sorbonne Paris Cité, l'Institut Curie, l'Institut Gustave Roussy, l'Institut Universitaire d'Hématologie de l'Hôpital Saint-Louis, l'Université Paris Diderot, l'Université Paris Descartes, l'Université Paris-Sud et l'Assistance Publique-Hôpitaux de Paris. A travers cette alliance, une forte politique régionale de recherche, de formation et d'éducation en cancérologie a vu le jour en Ile-de-France.

Le directeur de ce programme est le professeur Guido Kroemer, une référence dans le milieu de la cancérologie, médecin de renom et chercheur reconnu.

Inaugurée en Septembre 2013, PaCri HTS est une plate-forme de biologie cellulaire à Gustave Roussy. C'est l'une des pierres de financement du futur parc biotechnologique du Grand Paris Cancer Campus. Elle met en œuvre des flux de travail entièrement automatisés en biologie cellulaire, qui permettent le dépistage phénotypique au moyen de composés et de bibliothèques siARN à grande échelle.

Le laboratoire a déjà servi à plusieurs reprises, dans le cadre d'un accord de partenariat avec Danaher, comme unité de démonstration pour Molecular Devices et Beckman.

Cela permet aussi de renforcer la collaboration avec les fournisseurs et sert à des fins de relations publiques car elle augmente la visibilité de la plate-forme au sein de la communauté scientifique française et de l'industrie pharmaceutique. Un énorme effort a été consacré à l'élaboration des tests et à la génération d'algorithmes facilitant la segmentation d'images acquises en utilisant les dispositifs moléculaires sous microscopes IXM XL.

A propos de l'IGR – UMR 848 :

L'UMR 848 - Apoptose, cancers et immunité - Unité mixte de recherche INSERM – Gustave Roussy - Université Paris-XI est rattachée à l'Institut de recherche intégrée en cancérologie de Villejuif.

Aujourd'hui, les différentes thérapies permettent de tuer les cellules cancéreuses mais pas de reconnaître une cellule cancéreuse non active (appelée « cellule dormante »). Le taux de rechute est donc élevé, une récurrence apparaît dans 50% des cas.

En outre, une cellule qui a résisté à une première thérapie sera aussi plus résistante à un deuxième traitement. Cette 2^{ème} thérapie intervient souvent dans les cinq années après le premier cancer.

L'exploration en profondeur des relations entre les mécanismes de mort cellulaire, la résistance contre l'induction de la mort cellulaire et les interactions entre le système immunitaire et la mort des cellules tumorales devraient contribuer à établir les fondements théoriques pour l'amélioration du diagnostic, du pronostic et de la prise en charge thérapeutique du cancer.



C'est ce qui résume la vision de la plateforme PaCri et le partenariat entre Noroit et l'IGR.

A propos du Professeur Guido Kroemer :

Le Parisien – février 2006 – « Il fait partie des « docteurs de la décennie ». Guido Kroemer, basé à l'institut Gustave-Roussy de Villejuif, fait partie des chercheurs les plus souvent cités dans les publications des revues scientifiques mondiales entre 1995 et 2005. Ce classement des « Doctors of the Decade » a été publié dans le dernier numéro de la revue américaine « Science Watch ».

Cette place dans le hit-parade des « docteurs de la décennie », Guido Kroemer la doit aux recherches qu'il mène avec son équipe sur l'apoptose, le processus de mort cellulaire programmée ».

A propos de Noroit :

Noroit conçoit, fabrique et commercialise des appareils de protection contre les risques de contamination biologique, principalement dans le domaine de la santé.

Créée en 2006, Noroit propose une gamme complète d'appareils, fabriqués selon des procédures de qualité strictes et entièrement produits en France :

Protection de la manipulation	Hottes à flux laminaire horizontal ou vertical, Hottes de PCR, Plafonds soufflants, Armoires d'animalerie,
Protection du manipulateur	Postes de sécurité microbiologique, Postes de sécurité microbiologique pour zootechnie, Hottes pour robots ou cytomètres de flux, Hottes pour microscopes ou binoculaires, Hottes de change,
Confinement absolu	Isolateurs pour applications pharmaceutiques et hospitalières, Isolateurs pour zootechnie,

Noroit - 13, rue des Coteaux de Grandlieu - 44830 BOUAYE

Tél. : 02.40.50.12.77 - contact@noroitlabo.com

www.noroitlabo.com